

Fructose 1,6-bisphosphatase (FBP) Activity Assay Kit

植物果糖-1,6-二磷酸酶(FBP)活性检测试剂盒 分光法

产品编号	产品名称	规格
BL1076A	植物果糖-1,6-二磷酸酶(FBP)活性检测试剂盒 分光法	48T

产品简介:

果糖-1,6 二磷酸酶 (Fructose 1,6-bisphosphatase, FBP, EC 3.1.3.11) 又称果糖 1,6 二磷酸酯酶, 其在糖异生过程和光合作用同化物蔗糖的合成中起关键性的作用, 有两种类型 FBPase 存在于光合细胞中。胞质型 FBP 主要存在于细胞质, 参与蔗糖合成和糖异生途径; 叶绿体型 FBP 存在于叶绿体中, 它在二氧化碳同化途径中发挥调节作用。

FBP 催化 1,6 二磷酸果糖和水生成 6 磷酸果糖和无机磷, 接着与酶促复合物相互作用, 伴随着 NADPH 的生成, 通过检测 NADPH 在 340nm 处的增加速率, 进而计算出 FBP 酶活性大小。

产品组成:

试剂名称	规格	保存要求	备注
提取液一	液体 60mL×1 瓶	4°C保存	
提取液二	液体 60mL×1 瓶	4°C保存	
试剂一	粉末×1 支	4°C保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部, 再加 2.1mL 蒸馏水溶解备用。
试剂二	粉末×1 支	-20°C保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部, 再加 2.1mL 蒸馏水溶解备用。
试剂三	液体 30mL×1 瓶	4°C保存	
试剂四	粉末×1 瓶	4°C保存	用前甩几下或离心使试剂落入底部, 再加 4.2mL 蒸馏水溶解备用。

使用方法:

建议正式实验前, 选取 2 个样本做预测定, 了解实验样品情况, 熟悉流程, 避免样本和试剂浪费!

一、样本准备:

1. 总 FBP 酶提取:

- (a) 称取约 0.1g 样本, 加入 1mL 提取液二, 进行冰浴匀浆;
- (b) 13000rpm, 4°C离心 5min, 取上清待测。

2. 胞浆和叶绿体 FBP 酶分离:

- (a) 称取约 0.2g 样本, 加入 1mL 提取液一, 进行冰浴匀浆;
- (b) 1600rpm, 4°C离心 5min, 弃沉淀, 取上清;
- (c) 5000rpm, 再次 4°C离心 15min, 取上清用于测定胞浆 FBP 酶活性;

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



- (d) 取沉淀加 1mL 提取液二，强力涡旋震荡 15s，置于冰上(或冰箱)孵育 15min；
 (e) 13000rpm 离心 5min，取上清测定叶绿体中 FBP 酶活性。

【注】：整个叶绿体的提取过程须保持4℃低温环境。建议测定总FBP酶活性，按照步骤1提取粗酶液，若需
 要分别测定胞浆和叶绿体中的FBP，则按照步骤2提取粗酶液。
 若增加样本量，可按照组织质量（g）：提取液体积(mL)为 1：5~10 的比例进行提取

二、样品测定：

1. 紫外分光光度计预热 30min，设定波长到 340nm，设置温度 25℃，蒸馏水调零。
2. 所有试剂解冻至室温（25℃）。
3. 在 1mL 石英比色皿（光径 1cm）中依次加入：

试剂名称（ μL ）	测定管
样本	40
试剂一	40
试剂二	40
试剂三	500
轻轻混匀，室温（25℃）孵育 10min	
试剂四	80
混匀，于 340nm 处测定，1min 时读取 A1，10min 后读取 A2， $\Delta A=A2-A1$ 。	

【注】：若 ΔA 在零附近徘徊，可以延长至 20min 后重新读取 A2，或则增加样本量 V1（如增至 80 μL ，则试剂三相应减少），则改变后的反应时间 T 或样本量 V1 需重新代入计算公司计算。

三、结果计算

1. 按样本蛋白浓度计算：

酶活定义：每毫克组织蛋白每分钟催化产生 1nmol NADPH 定义为一个酶活性单位。

$$\text{FBP}(\text{nmol}/\text{min}/\text{mg prot}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (V1 \times \text{Cpr}) \div T$$

$$= 281.4 \times \Delta A \div \text{Cpr}$$

2. 按照样本鲜重计算：

酶活定义：每克组织每分钟催化产生 1nmol NADPH 定义为一个酶活力单位。

$$\text{FBP}(\text{nmol}/\text{min}/\text{g 鲜重}) = [\Delta A \times V2 \div (\epsilon \times d) \times 10^9] \div (W \times V1 \div V) \div T$$

$$= 281.4 \times \Delta A \div W$$

V--提取液体积，1 mL

d--光径，1cm

ϵ --NADH 摩尔消光系数， $6.22 \times 10^3 \text{ L}/\text{mol}/\text{cm}$

T--反应时间，10min

V1--加入样本体积，0.04mL

V2--反应体系总体积， $7 \times 10^{-4} \text{ L}$

W--样本质量，g

Cpr--蛋白浓度（mg/mL）

注意事项：

- 1、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。
- 2、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

-20℃保存三个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
 注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。

